

ЛИПИДЫ НЕМАТОДЫ *PARAMERMIS TABANIVORA* (NEMATODA, MERMITHIDAE)

С. Д. Гурьянова, В. В. Сорокина, П. О. Рипатти, В. С. Сидоров

Методом тонкослойной и газо-жидкостной хроматографии исследован липидный состав нематоды *Paramermis tabanivora*, паразитирующей у личинок слепней. Установлено, что основными липидами у нематоды являются триацилглицерины и в меньшей степени — фосфолипиды, тогда как содержание свободного и этерифицированного холестерина относительно мало. Жирно-кислотный состав мермитид характеризуется высокой степенью ненасыщенности. Имеются различия в жирно-кислотном составе триацилглицеринов и фосфолипидов. Мембранные липиды мермитид содержат больше полиеновых кислот ($C_{20:3}$, $C_{20:4}$ и $C_{20:5}$).

В настоящее время наиболее полно изучены биохимические особенности нематод, паразитирующих у позвоночных животных. Состав липидов нематод близок, но не идентичен таковому хозяина; главным источником жирных кислот и стеролов для гельминтов являются ткани хозяина; отмечается зависимость липидного состава червей от состава диеты хозяина. Нематоды могут модифицировать жирные кислоты, начиная с пальмитиновой, путем превращения их в длинноцепочечные насыщенные и ненасыщенные кислоты десатурацией и присоединением активированного ацетата (Beames a. e., 1967; Meyer a. e., 1970; Morrison, Ritter, 1986; Высоцкая, Сидоров, 1973; Выхрестюк и др., 1977).

Литературные сведения об особенностях липидного обмена у нематод, паразитирующих у насекомых, весьма ограничены (Gordon e. a., 1979). Учитывая это, мы провели работу, целью которой было исследование липидного состава мермитид *Paramermis tabanivora*, паразитирующих у личинок слепней рода *Hybomitra*.

Материал и методы исследования. Материал был собран на территории Карелии (Кондопожский район, пос. Кончезеро). Мермитид извлекали из полости тела личинок слепней, многократно промывали в дистиллированной воде, подсушивали на фильтровальной бумаге, измельчали ножницами и фиксировали в колбах со шлифами смесью хлороформа с метанолом (2 : 1). Было собрано 5 проб. Каждая проба для анализа гельминтов состояла из 40—50 экз. нематод, извлеченных из разных особей личинок слепней одного вида. Анализ каждой пробы проводили в трех повторностях. Из полученных проб липиды извлекали по методу Фолча (Folch e. a., 1957). Общий липидный экстракт анализировали с помощью одномерной хроматографии на силикагеле (Шталь, 1965). Фосфолипиды, триацилглицерины и эфиры холестерина определяли гидроксаматным методом, холестерин по методу Ильке, модифицированному применительно к тонкослойной хроматографии (Сидоров и др., 1972). Количественную оценку фосфолипидных групп определяли по фосфору, используя в качестве восстановителя аскорбиновую кислоту (Rouser a. e., 1966). Для определения жирных кислот липиды метилировали метанолом с хлористым ацетилом (Цыганов, 1971). Метилловые эфиры жирных кислот экстрагировали гексаном и разделяли на хроматографе при 170° в колонках длиной 2.4 м и внутренним диаметром 3 мм на полярной фазе (15 %-ный диэтиленгликольсукцинат на хромосорбе III—AIII). Идентификацию жирных кислот проводили по времени удерживания метчиков, а также сравнением собственных данных с литературными.

Результаты и их обсуждение. Количество липидов в тканях мермитид составляет 30.8 % на сухой вес (табл. 1). По содержанию липидов мермитиды почти не отличаются от других нематод. Так, значительное количество липидов было обнаружено в нематодах *Panagrelus redivius* — 24.0 % (Sivalapen, Jenkins, 1966). Однако следует отметить, что количество липидов в нематодах варьирует в широких пределах в зависимости от физиологических и экологических факторов. Так, у аскарид в органах размножения содержится 6.0 % липидов, а в оплодотворенных яйцах — 17.5 % (Lee, 1965), у *Mecistocirrus digitatus*, обитающих в сычуге крупного рогатого скота, — 10.4 % (Выхрестюк, Ярыгина, 1975). Основное количество липидов мермитид представлено нейтральными липидами. Преобладают среди них триацилглицерины (21.6 %). Холестерин и эфиры холестерина составляют незначительную часть (0.6 и 1.2 % соответственно). В этом отношении они близки к мермитидам *Romanermis culicivora*, паразитирующих в личинках комара, и *Neomesomermis flumenalis*, являющихся паразитами мошек (Gordon e. a., 1979). Запасные липиды (триацил-

Т а б л и ц а 1

Содержание различных групп липидов у *Paramermis tabanivora*, в % на сухой вес

Липидные фракции	Мермитиды	Липидные фракции	Мермитиды
Общие липиды	30.8±2.6	Фосфатидилхолин	3.7±0.2
Фосфолипиды	7.4±0.1	Фосфатидилэтаноламин	1.4±0.1
Триацилглицерины	21.6±1.8	Сфингомиелин	1.3±0.2
Холестерин	0.6±0.1	Фосфатидная кислота	0.4±0.1
Эфиры холестерина	1.2±0.2	Кардиолипид	0.2±0.07
Лизолецитин	0.3±0.05		

П р и м е ч а н и е. Число определений — 9.

глицерины) мермитидам необходимы для образования яиц и спермиев и развития половых органов. Развитие половых и закладка копулятивных органов происходит еще в период развития паразитической личинки (Рубцов, 1974). Кроме того, резервные липиды используются гельминтами на последующих стадиях развития (включая интенсивный рост половых органов), когда они покидают хозяина, перестают питаться и ведут свободный образ жизни. Вероятно, мермитиды используют готовые продукты обмена хозяина, что характерно для паразитических организмов. В то же время установлено, что гельминты способны к синтезу собственных фосфолипидов, триацилглицеринов и эфиров холестерина, используя жирные кислоты и стеролы хозяина (Harrington, 1965). Мермитиды могут поглощать как продукты гидролиза липидов, так и неизмененные гидролизом липиды.

Фосфолипиды мермитид включают следующие фракции: фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, сфингомиелин, лизолецитин, фосфатидная кислота, кардиолипид. Преобладающими в количественном отношении являются фосфатидилхолин (51.2 %), фосфатидилэтаноламин (18.8 %) и сфингомиелин (17.5 %). В меньшем количестве содержатся лизолецитин (4.0 %), фосфатная кислота (5.4 %) и кардиолипид (3.1 %) (табл. 1). Структурные липиды мермитид

Т а б л и ц а 2

Жирнокислотный состав липидов *Paramermis tabanivora*
(в % от суммы жирных кислот)

Жирные кислоты	Общие липиды	Фосфолипиды	Триацилглицерины	Свободные кислоты
12:0	13.5±1.0		9.2±1.1	
12:1	0.6±0.2		0.1±0.0	
13:0	0.2±0.05		0.1±0.0	
13:1	0.2±0.03		0.2±0.05	1.5±0.1
14:0	5.2±0.4	0.5±0.2	5.5±1.2	1.4±0.1
14:1	1.1±0.2	0.3±0.1	0.9±0.3	1.0±0.1
15:0	0.2±0.07	0.2±0.05	0.1±0.01	0.9±0.1
15:1	0.3±0.1	0.2±0.1	0.7±0.3	0.5±0.2
16:0	8.2±0.4	9.2±0.1	7.6±0.5	23.9±0.5
16:1	13.7±1.0	10.4±0.3	15.8±1.5	8.0±0.2
17:0	0.5±0.2	0.5±0.2	0.4±0.1	1.5±0.1
17:1	0.9±0.1	0.8±0.3	0.7±0.1	0.4±0.2
18:0	4.2±0.1	10.4±1.3	3.0±0.8	6.7±0.4
18:1	37.9±2.4	35.2±2.3	41.6±1.8	22.6±0.3
18:2ω6	7.4±0.1	15.2±2.2	8.4±1.3	17.9±0.3
18:3ω6		0.4±0.2		0.1±0.01
18:3ω3	2.0±0.5	4.1±0.8	2.1±0.6	3.7±0.1
20:0		0.5±0.2		0.9±0.1
20:1	1.5±0.2	0.2±0.1	1.0±0.1	0.3±0.1
20:3ω6		7.1±1.2	0.2±0.1	5.5±0.1
20:4ω3		0.3±0.1		0.2±0.1
20:5ω3	2.4±0.3	4.5±0.6	2.2±0.3	4.0±0.7
В том числе:				
насыщенные	32.0	21.3	25.9	34.3
моноеновые	56.2	47.1	61.2	34.3
полиеновые	11.8	31.6	12.9	31.4

в целом аналогичны структурным липидам других нематод. Преобладающими фосфолипидами у нематоды *Panagrellus redivivus* являются фосфатидилхолин и фосфатидилэтанолламин (Sivapalan, Jenkins, 1966).

Жирнокислотный состав общих липидных экстрактов мермитид, нейтральных липидов, фосфолипидов и неэстерифицированной фракции представлен в табл. 2. Исследуемые гельминты содержат разнообразные жирные кислоты (от $C_{12:0}$ до $C_{50:5}$). Жирнокислотный состав мермитид, как и других паразитических червей, характеризуется высокой степенью ненасыщенности. Содержание непредельных жирных кислот во всех фракциях достигает 65.7—78.7 % от суммы всех жирных кислот. В преобладающем количестве присутствует олеиновая кислота (18:1), содержание которой меняется от 22.6 % у свободных жирных кислот до 41.6 % в триацилглицеринах. Ненасыщенность липидов мермитид примерно такова же, как и в нематодах из других животных: *Mecistocirrus digitatus* (Выхрестюк, Ярыгина, 1975), *Toxascaris leonina* (Сидоров, Смирнов, 1980).

Во фракции свободных жирных кислот мермитид преобладают пальмитиновая (16:0), олеиновая (18:1) и линолевая (18:2) кислоты. Жирнокислотный состав нейтральных липидов-триацилглицеринов значительно отличается от такового полярных — фосфолипидов. В фосфолипидах не обнаружено кислот с C_{12} и C_{13} углеродными атомами. В этой фракции липидов преобладают кислоты с длиной цепи C_{18} и более, в то время как в триацилглицеринах кислоты с более короткой цепью ($C_{12:0}$, $C_{14:0}$ и $C_{16:0}$).

Следует также отметить, что жирнокислотный профиль триацилглицеринов мермитид соответствует таковому общего липидного экстракта. Вероятно, это связано с тем, что липиды мермитид на 70 % представлены нейтральными липидами. Наблюдаемые различия в соотношении жирных кислот у триацилглицеринов и фосфолипидов отражают различия в биологической функции этих фракций липидов. Хорошо известно, что состав жирных кислот структурных фосфолипидов в значительной степени определяет функциональные свойства мембран. Для них характерно более высокое содержание полиеновых жирных кислот (31.6 % по сравнению с 13.0 % у триацилглицеринов). Соотношение жирных кислот запасных липидов в основном зависит от такового в кормовых организмах. У исследованных нами гельминтов не обнаружено пента- и гексаеновых кислот $C_{22:5}$ и $C_{22:6}$, нет их и в липидах хозяина — личинок слепней. Возможно, это связано с тем, что личинки слепней питаются всеми видами олигохет, водными и почвенными личинками насекомых (двукрылые, ручейники, веснянки, личинки водных жуков и т. д.), у которых, как известно, кислот $C_{22:5}$ и $C_{22:6}$ не обнаружено (Парнова, Светашев, 1985; Stanley-Samuelson, Dadd, 1983). Поскольку паразитические черви неспособны к самостоятельному синтезу жирных кислот (Jacobsen, Fairbairn, 1967), большое количество жирных кислот $C_{16:1}$, $C_{18:1}$ и $C_{18:2}$ в липидах мермитид объясняется способностью нематод избирательно поглощать из окружающей среды жирные кислоты и использовать их для построения липидов.

Л и т е р а т у р а

- Высоцкая Р. У., Сидоров В. С. О содержании липидов у некоторых гельминтов пресноводных рыб // Паразитология. 1973. Т. 7, вып. 1. С. 51—56.
- Выхрестюк Н. П., Ярыгина Г. В. Характеристика липидов некоторых гельминтов — паразитов крупного рогатого скота // Гельминтологические исследования животных и растений. 1975. Т. 26, вып. 129. С. 192—201.
- Леутская З. К., Пискунова Л. В. Содержание фракции холестерина в тканях *Ascaris suum* // Тр. ГЕЛАН. 1977. Т. 23. С. 83—86.
- Парнова Р. Г., Светашев В. И. Полиненасыщенные жирные кислоты в составе липидов тканей водных насекомых // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 1985. Т. 21, № 3. С. 242—247.
- Рубцов И. А. Водные мермитиды. Ч. 2. Наука, 1974. 222 с.
- Сидоров В. С., Лизенко Е. И., Болгова О. М., Нефедова З. А. Липиды рыб. I. Методы анализа. Тканевая специфичность липидов ряпушки *Coregonus albula* // Лососевые (Salmonidae) Карелии. Вып. 1. Петрозаводск, 1972. С. 144—151.
- Сидоров В. С., Смирнов Л. П. Жирнокислотный состав некоторых гельминтов холоднокровных и теплокровных позвоночных // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 1980. Т. 16, № 6. С. 551—555.
- Цыганов Э. П. Метод прямого метилирования липидов после ТСХ без элюирования с силикагеля // Лаб. дело. 1971. № 8. С. 490—493.
- Шталь Э. Хроматография в тонких слоях. М.: Мир, 1965. С. 137—182.
- Beames C. G., Harris B. G., Hooper F. A. The synthesis of fatty acids from acetate by intact tissue and muscle extract of *Ascaris lumbricoides suum* // Comp. Biochem. Physiol. 1967. Vol. 20, N 2. P. 509—521.

- Folch G., Lees M., Sloanstanley G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues (for brain, liver and muscle) // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226. P. 497—509.
- Gordon R., Finney L. R., Condon N. J., Rustid T. N. Lipids in the storage organs of three mermithid nematodes and in the hemolymph of their hosts // Comp. Biochem. Physiol. 1979. Vol. 64, N 3. P. 384—387.
- Harrington G. The lipids component of *Hymenolepis diminuta* and *Hymenolepis citelli* // Exp. Parasitol. 1965. Vol. 17, N 3. P. 384—387.
- Jacobsen F., Fairbairn D. Lipid metabolism in helminth parasites. 11. Biosynthesis and interconversion of fatty acids by *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) // J. Parasitol. 1967. Vol. 53. P. 335—361.
- Lee D. L. The physiology of Nematodes. Edinburgh and London. Oliver Boyd, 1965. 152 p.
- Meyer F., Meyer H., Bueding E. Lipid metabolism in the parasite and free living flatworm *Schistosoma mansoni* and *Dugesia dorotocephala* // Biol. Chem. Biophys. Acta. 1970. Vol. 210, N 2. P. 257—260.
- Morrison A. H., Ritter K. S. Effect of host insect sterols on the development and sterol composition of *Steirnernema feltia* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 19, N 2. P. 135—142.
- Rouser G., Siakotos A. N., Fleisher S. Quantitative analysis of phospholipids by thin-layer chromatography and phosphorus analysis of spots // J. Lipid. 1966. Vol. 1. P. 85—86.
- Sivalapen P., Jenkins W. K. Phospholipids and longchain fatty acid composition of the nematode *Paragrellus redivius* // Proc. Helminth. Soc. Wash. 1966. Vol. 33, N 2. P. 149—151.
- Stanley-Samuelson D. W., Dadd R. H. Longchain polyunsaturated fatty acids: patterns of occurrence in insects // Insect Biochem. 1983. Vol. 13, N 5. P. 549—558.

Институт биологии Карельского филиала АН СССР,
Петрозаводск

Поступила 22.07.1987

LIPIDS OF PARAMERMIS TABANIVORA (NEMATODA, MERMITHIDAE)

S. D. Gurjanova, V. V. Sorokina, P. O. Ripatti, V. S. Sidorov

S U M M A R Y

The lipid content of *Paramermis tabanivora* parasitic in tabanid larvae was investigated by the method of gas-liquid and thin-layer chromatography. It has been established that the main lipids in this nematode are triacylglycerines and, to a lesser extent, phospholipids while the content of free and etherified cholesterol is relatively low. Fatty acid content of mermithids is characterized by a high degree of nonsaturation. There are differences in the fatty acid content of triacylglycerines and phospholipids. Membrane lipids of mermithids contain more polyene acids ($C_{20:3}$, $C_{20:5}$).